

## 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 赤 澤 貴 子

主論文 1 編

Aberrant expression of the *PHF14* gene in biliary tract cancer cells.

ONCOLOGY LETTERS 5: 1849-1853, 2013

## 審 査 結 果 の 要 旨

ゲノム DNA の欠失による遺伝子の発現消失は、腫瘍の発生と進展にかかわる一つのメカニズムである。近年、高密度オリゴヌクレオチドアレイの開発により、網羅的かつ高解像度に腫瘍における DNA コピー数解析を行うことが可能になった。

申請者は、胆道癌に関与する遺伝子を同定することを目的とし、GeneChip Mapping 250K Sty array (Affymetrix)を用いて、ヒト胆道癌細胞株 8 株を対象に DNA コピー数解析を行った。解析の結果、DNA コピー数増加を染色体 5p, 17q (8 検体中 7 検体, 88%), および 8q (同中 6 検体, 75%)で高頻度に認め、DNA コピー数低下を染色体 4p, 4q (8 検体中 7 検体, 88%) および 6q (同中 6 検体, 75%)で高頻度に認めた。ホモ欠失と染色体増幅について解析したところ、*KRAS*(12p12.1), *ERBB2*(17q12) など既知のがん遺伝子を含む染色体増幅領域と、*FHIT* (3p14.2), *CDKN2A* (9p21), *CDKN2B* (9p21), *WWOX* (16q23.1)などの既知のがん抑制遺伝子を含むホモ欠失領域を同定できた。今回、新規に同定することができた染色体 7p21.3 ホモ欠失領域に着目して検討を進めた。8 種類の胆道癌細胞株の中で、細胞株 OZ が 7p21.3 領域でホモ欠失を呈した。その領域内には 5 個の遺伝子が含まれた。それら遺伝子に対しゲノム PCR を施行し、単一の遺伝子 *PHF14* がホモ欠失していることが判明した。さらに *PHF14* の各 Exon について PCR を施行したところ、*PHF14* の Exon1 から Exon18 のうち、Exon 5 から Exon17 がホモ欠失していた。DNA コピー数と mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法にて解析し、細胞株 OZ で *PHF14* の欠失に伴う mRNA 発現の消失を確認した。また胆道癌細胞株でウェスタンブロッティングを施行、細胞株 OZ において *PHF14* 蛋白の発現消失を確認した。

*PHF14* の発現消失が胆道癌細胞で機能的な役割を果たしているかを調べるために、siRNA を用いて OCUG1 細胞における *PHF14* の発現をノックダウンし、細胞増殖アッセイを行った。ノックダウンした細胞はコントロールに比較して、有意に増殖が亢進していた。これらの結果より *PHF14* の発現消失が胆道癌細胞の増殖を促進する可能性が示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、胆道癌における網羅的 DNA コピー数解析の手法として高密度オリゴヌクレオチドアレイを導入し、これまで同定されていなかった 7p21.3 ホモ欠失領域の標的遺伝子 *PHF14* を同定し、さらに *PHF14* の発現消失が胆道癌細胞の増殖を促進することを明らかにした点で医学上価値ある研究と認める。

平成 25 年 12 月 19 日

審査委員 教授 奥 田 司 ㊞

審査委員 教授 大 辻 英 吾 ㊞

審査委員 教授 八木田 和 弘 ㊞